En utmärkt preparationsmetod för mikro-artropoder.

Av

O. LUNDBLAD.

(Med 3 textfigurer.)

Den moderna systematiken strävar i allmänhet efter skärpta artdiagnoser och i samband därmed ofta efter en uppdelning av de gamla otillräckligt kända kollektivarterna i flera, åtskilda genom små men konstanta och stundom även mycket intressanta karaktärer. Litet var, som fördjupat sig i en artropodgrupp, torde nog fått erfara detta samt funnit, huru man istället för den förr som universalredskap vid bestämningen använda luppen blivit tvungen att i allt större utsträckning tillgripa de numera till buds stående i optiskt hänseende överlägsna mikroskopen, varav särskilt de binokulära preparermikroskopen flitigt användas vid insekters bestämning. En mikroskopisk undersökning är emellertid blott i fåtalet fall och blott vid svagare förstoringar utförbar vid påfallande ljus; vanligen fordras genomfallande ljus, och detta kräver i sin tur i allmänhet förfärdigande av mikroskopiska preparat av hela eller åtminstone vissa särskilt viktiga delar av djuren. Det enda rationella tillvägagångssättet härvidlag torde väl i längden befinnas vara utförandet av ordentliga »Dauer»-preparat, vilka sedermera när som helst äro lätt tillgängliga och utan tidsspillan möjliggöra komparativa undersökningar.

Flera metoder härför finnas ju: de mest kända torde vara kanadabalsam- och gelatinglycerinmetoderna. Båda ha sina för- och nackdelar, och att döma mellan desamma tillkommer mig icke i detta sammanhang. Den ena kan bättre lämpa sig i ett, den andra i ett annat fall. Däremot vill jag här meddela ett och annat från min nu c:a 12-åriga erfarenhet beträffande preparation av acarider och den metod, som jag härvid funnit lämpligast, i förvissning om att metoden låter sig med fördel användas även beträffande en mängd andra smärre artropoder (ej minst insektlarver) och i den

förhoppningen, att andra personer, som arbeta med samma eller liknande objekt, skola kunna draga någon nytta av min framställning.

Ett stort fel hos kanadabalsammetoden är den särskilt med åren alltför stora genomskinlighet, som vissa objekt erhålla. Det är sålunda en välbekant sak, att t. ex. krustacéernas (exempelvis cladocerernas eller ostracodernas) borst bli så genomskinliga, att de blott med ansträngning kunna urskiljas. Detsamma gäller acaridernas och flera insekters resp. insektlarvers opigmenterade borst. Dessutom kräver balsammetoden en mycket besvärlig förutbehandling i spritskalan, vilken då det gäller små objekt (t. ex. mandibler etc. av ett synnerligen litet djur) kan bli ofantlig svår att utföra (särskilt vid vatttenklara objekt, som lätt »tappas bort» under överföringen från den ena till den andra vätskan i de virvelströmmar, som därvid uppstå) och i varje fall är ytterst tålamodsprövande och tidsödande. En annan, icke mindre olägenhet är att balsamen, åtminstone i inbäddningsögonblicket, är en relativt lättflytande vätska, och i en dylik kunna ju knappast föremål orienteras stående på kant, de falla alltid efter en stund ned på bredsidan. Åtminstone är detta ofelbart händelsen, då olikstora, delvis relativt tjocka, objekt skola läggas under samma täckglas och alltså en större balsammängd erfordras. Härvid kunna på sin höjd de större objekten säkert orienteras. Ännu en olägenhet är den »drift», som ytterst lätt uppstår i balsampreparat och först efter en tid upphör, ty härigenom försvåras en säker orientering av objekten och inläggning av ett större antal smådelar under samma täckglas omöjliggöres. Ej sällan händer, att ett eller annat objekt efter någon tid drivit ut till täckglasets kant, och att en senare granskning av ett från början vackert preparat endast framkallar besvikelse.

Bl. a. dessa ledsamma erfarenheter med den i övrigt goda balsammetoden — så t. ex. äro kanadapreparat obegränsat hållbara och föga ömtåliga — ha gjort, att jag efter moget övervägande och långvarigt experimenterande kommit att stanna vid gelatinglycerinmetoden, där ovannämnda nackdelar ej äro tillfinnandes. Jag har därvid kommit att i huvudsak tillämpa den teknik, som den nyligen avlidne acaridologen FERDINAND KOENIKE i Bremen använt sig av, och varom f. ö. nyligen hans lärjunge KARL VIETS lämnat en kort redogörelse i en hydrobiologisk tidskrift. Som jag sedan ett tiotal år stått eller står i personlig förbindelse med dessa båda forskare och dels genom de preparat, jag från dem vid upprepade tillfällen haft till granskning, dels genom den omnämnda redogörelsen av VIETS kommit att få en ingående kännedom om metoden och sedermera även själv haft långvarig övning i densamma, vill jag här nedan på uppmaning av redaktören för vår tidskrift lämna

de upplysningar jag kan till ledning för de entomologer, som eventuellt kunna få användning därför.

Metoden torde i allmänhet förutsätta förutbehandling av objekten i glycerin eller glycerinhaltigt konserveringsmedel. Acarider, som ju i allmänhet konserveras i OUDEMANS' eller KOENIKE'S vätskor, vilka båda innehålla glycerin, ägna sig således omedelbart för preparation. En nackdel med metoden är ju, att vid inbäddning i gelatinglycerinen en skrumpning av objekten lätt inträder; de böra därför ej utan vidare prepareras direkt från exempelvis sprit eller formol, utan böra först en tid ha förvarats i glycerin eller glycerinhaltig vätska.

Preparationen utföres f. ö. på följande sätt. På objektglaset anbringas med en glasstav en flat, rätt utbredd droppe smält gelatinglycerin. Under prepareringsmikroskopet överflyttas sedan med hjälp av en fin nål (t. ex. insektnål) de små objekten till droppen, där de efter hand ordnas i önskvärt läge, vilket även sker med nålen. Jag går härvid tillväga på så sätt, att jag först överför de större delarna, alltså t. ex. djurets kropp eller de ituskurna huvuddelarna av densamma. Vanligen äro ju dessa delar m. e. m. kupiga, och vid överföringen från glycerin till gelatinglycerin medföljer därför alltid en liten droppe glycerin. Därför måste nödvändigtvis iakttagas, att dessa delar med nålen släpas fram och åter i den ännu flytande gelatinglycerinen, så att jämn blandning åstadkommes. I annat fall skall man i det färdiga, tillsmälta preparatet efter en tid finna, att mjuka hudpartier sjunkit in och skrumpnat, beroende på membranernas permeabilitet för glycerin, men ej för gelatin. Redan medan droppen är varm böra därför dessa lätt deformerbara delar överföras till densamma. I regel måste f. ö. kroppen sprättas upp och befrias från inälvorna, så att gelatinglycerinen ordentligt kan inträngа i densamma, då i annat fall skrumpning vanligen inträder.

Först sedan droppen blivit relativt stelnad böra däremot övriga smådelar, palper, mandibler, antenner, ben etc., överföras, då dessa i regel ej kunna skrumpna, och ordnandet av desamma försiggår lättare i den halvstelnade droppytan; särskilt av vikt att beakta är även, att dessa minsta objekt, som ofta måste undersökas vid stark förstoring, placeras så nära droppytan som möjligt och ej tillåtas sjunka för djupt ned. Ett nedsjunkande kan nämligen göra avståndet till täckglaset för stort och följaktligen omöjliggöra användningen av starkare objektiv.

Vid högre rumstemperatur, såsom vid sommartid, kunna dessa smådelar vanligen lätt ordnas, innan droppen helt stelnat. Men äro de många, och särskilt vid lägre temperatur, hinner man vanligtvis ej ordna dem riktigt. Det är nämligen ej tillräckligt, att de ordnas i det önskade läget på droppens yta, de måste i själva

verket vara helt nedsänkta *i* droppen (dock i omedelbar beröring med ytan eller i varje fall så nära ytan som möjligt), då de i annat fall under den fortsatta behandlingen lätt kunna flyta bort eller rubbas ur sitt riktiga läge. För åstadkommande av detta kunna de lätt orienteras medelst en uppvärmd nålspets, varmed de nedsmältas i droppen så mycket, som behöves.

Härefter vidtager preparationens andra fas. Medan nyssnämnda droppe består av relativt mjuk gelatinglycerin, utgöres den ring, som nu skall dragas runt droppen, av hårdare sådan. Denna ring drages med en s. k. Drehscheibe — jag använder nämligen bl. a. av estetiska skäl runda täckglas, då det är betydligt lättare att med dylika erhålla vackra preparat — och den smälta gelatinglycerinen tillföres med en glasstav. Ringen är avsedd att tjäna som stöd för täckglaset och måste vara minst så hög som högsta punkten av den centrala droppytan, men får ej heller vara nämnvärt högre. Så snart ringen stelnat fullständigt, tillföres försiktigt, så att inga luftblåsor medfölja, med en glasstav en tillräckligt stor droppe mjuk gelatinglycerin för utfyllande av mellanrummet mellan den första droppen och den yttre ringen. Med glasstaven utbredes droppen över objektet samt mot periferien så pass långt, att den kommer i full beröring med ringen och åtminstone fuktar dennas inre kant. Härvid måste beaktas, att tillräckligt med gelatinglycerin tillsättes, ty eljest kvarbliva luftblåsor vid täckglasets påläggande, och som dylika i regel ej kunna avlägsnas, måste oftast ett sådant preparat helt göras om. Täckglaset pålägges nu, och härmed är preparatet provisoriskt färdigt och användbart.

De för tillagning av gelatinglycerinen lämpligaste recepten har jag funnit vara följande:



Fig. 1. Acaridpreparat med upptill och nedtill oljemålade ytor, tjänande som etiketter. Täckglaset vändes nedåt, och objektglasets båda ändar ha fastklistrade glasbitar på undersidan. Obetydlig förstoring.

Hård gelatinglycerin. 13 gr. gelatin lägges för uppmjukning i en liten glasburk, vartill sättes 60 ccm. aqua dest. Efter ett par timmar, under vilken tid burken då och då skakats, placeras den i vattenbad. Under uppvärmning omröres med glasstav tills gelatinen löst sig, varefter tillfogas 60 ccm. kemiskt ren glycerin och slutligen ½—1 gr. kristalliserad fenol, varefter ånyo omröres tills

vätskan klarnat. Slutligen filtreras den varma gelatinglycerinen genom bomull (eller urtvättad glasull) och är därefter färdig för användning.

Mjuk gelatinglycerin. Beredes som föregående, men kvantiteterna äro: 10 gr. gelatin, 60 ccm. aqua dest., 54 ccm. glycerin och $\frac{1}{2}$—1 gr. fenol.

För att skydda preparaten för uttorkning drages slutligen en ring av kanadabalsam runt täckglasets kant, samt för säkerhets skull efter en vecka ytterligare en ring av asfaltlack ovanpå den förra. Ringdragningen sker naturligtvis med »Drehscheibe».

Gelatinglycerin- såväl som andra preparat måste för besparing av tid fabriceras till ett antal av åtminstone några stycken på en gång. Den här beskrivna metoden förutsätter, som torde framgå av det redan sagda, uppvärmning av gelatinglycerinen, innan preparationen skall börja. Jag förvarar gelatinglycerinen i 2 glasflaskor med påslipade glashuvar; uppvärmningen sker i vattenbad över en liten spritlampa, som håller konstant temperatur. Det är på detta sätt lätt att tillverka flera preparat efter varandra. Ännu mera tidsbesparande är det om arbetet fördelas så, att alla täckglas påläggas först sedan ett antal preparat gjorts klara härför; emellertid få då särskilt de första preparaten ligga öppna rätt länge och utsättas härvid lätt för damm. Metoden är därför oanvändbar såvida ej förfares så, att preparaten vändas om efter glyceringelatinringens dragning och förbli liggande i detta stupläge tills deras tur kommer att genom påfyllnad av mjuk gelatinglycerin och påläggning av täckglas fullbordas. Jag använder mig fördenskull av påklistring på objektglasets båda ändar av en list av mjölkglas (eller vanligt glas), varigenom objektglaset kommer att vila på ett par socklar, som naturligtvis måste göras så höga, att täckglaset ej kommer i beröring med underlaget. Fastklistringen sker bäst med vattenglas. Preparaten förvaras sedan lämpligen även framdeles i detta »omvända» läge, vilket i hög grad hindrar täckglasets neddamning. Härigenom undvikes den särskilt då det gäller gelatinglycerinpreparat mycket riskabla avdamningen av täckglasen; en vansklighet med dylika preparat är just att om vid omild behandling någon läcka eller bristning uppstår i den tillslutande balsam- och lackningen, luft lätt inkommer och med tiden gör preparaten odugliga.

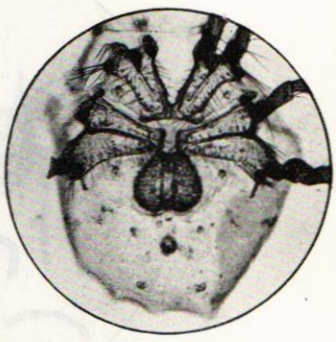


Fig. 2. En acarid, *Diplodontus despiciens* (MÜLL.), starkt förstorad, sedd från buksidan.

Preparat, som vända täckglaset nedåt, äro naturligtvis mindre utsatta för beröringsskador än på vanligt sätt orienterade preparat. Etiketterna klistrar jag följaktligen på motsatt sida mot den, som bär täckglaset. Ett bra sätt är f. ö. att i stället för pappersetiketter använda oljemålning av objektglasets nedre (event. även övre) kant. Efter vederbörlig torkning av den vita färgen kan härpå lätt skrivas med tusch (eventuellt först efter avtvättning med stark sprit av den ofta något feta oljefärgsytan). Sedan måste det hela lackeras med t. ex. porslinslack, ty tuschskriften suddas eljest ytterst

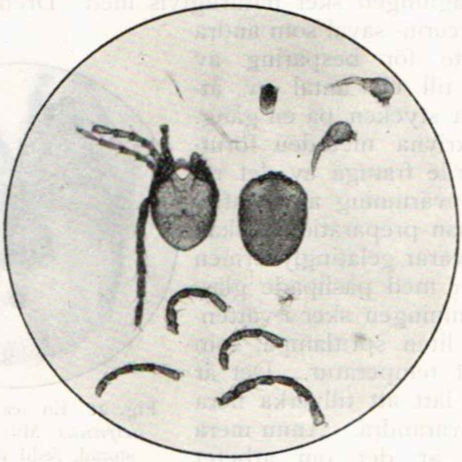


Fig. 3. En annan acarid, *Kongsbergia materna* Sig Thor, starkt förstorad; i mitten till vänster det ituskurna djurets buksköld, till höger dess ryggsköld, nedtill ben och penis, upptill mundelar.

lätt ut. Dylika etiketter kunna göras mycket vackra, bli ej smutsiga och äro praktiskt taget obegränsat hållbara.

I vilka fall ovan beskrivna metod kan vara lämplig, kan endast erfarenheten avgöra; säkert är emellertid, att den bör kunna få vidsträckt användning. Gelatinglycerinmetoden är ju gammal och välkänd, och endast en del ovan berörda detaljer vid preparationen torde vara tämligen okända bland vårt lands entomologer. Utförandet är ej särskilt svårt, men kräver naturligtvis såväl övning som ett lätt handlag för att kunna verkställas med full framgång och så, att preparaten bli vackra. Rörande preparatens hållbarhet vågar jag ej bestämt yttra mig. Jag har emellertid sett utmärkta c:a 20 år gamla sådana. En noggrann tillslutning av preparaten medelst väl utförda ringar är naturligtvis av allra största vikt.